

Cílové molekuly

pro terapii nádorů (1. část)

Hledání klíčových molekul signálních drah navozujících nádorové bujení je atraktivní strategií pro vývoj nových léků v onkologii. Jde především o dráhy působící na růst, množení, diferenciaci, šíření nebo apoptózu nádorových buněk. Nejvíce je studována rodina receptorových a non-receptorových tyrosin-proteinkinás, dále inhibitory růstových faktorů a receptorů epidermálního růstového faktoru, signální dráhy Ras/Raf/MAPK nebo PI3K/Akt/PTEN a dráhy s nimi sdružené (jako je dráha IGF, mTOR, STAT, Aurora kinasy, dále modifikace genové exprese pomocí protisměrných oligonukleotidů, interferenční RNA, faktory ovlivňující angiogenezi a endotelové buňky (kupř. VEGF), ubikvitin-proteasomový komplex, deacetylasy histonu.

stačí. Buněčné složení nádoru není obvykle homogenní a některé jeho buňky nebo jejich další generace získávají rezistenci vůči původně účinnému léku. Značně záleží také na reakci vlastního organismu.

Rodina receptorových a non-receptorových proteinkinás

Tyrosin-proteinkinasy (TK) provádějí signální transdukcí tím, že přenášejí aktivační γ -fosfátovou skupinu z ATP na tyrosin v příslušném místě molekuly substrátu (fosforylace), kterou je protein (enzym) v kaskádě signální dráhy. *Serin/threonin-proteinkinasy* fosforylují stejným způsobem substrátovou molekulu v místě příslušného serinu a threoninu. Fosforylace se může dít též na jiných signálních mole-

růst, množení, apoptóza, přežívání, tvorba a sekrece specifických molekul apod.). Některé kinasy jsou spojeny s membránou jako součást membránového receptoru (receptorové proteinkinasy), jiné jsou umístěny v cytoplasmě jako člen signální dráhy (non-receptorové proteinkinasy). Fosforylována (aktivována) může být i další kinasa v řadě, kupř. Mek = kinasa kinasy pro MAPkinasu). Až dosud bylo identifikováno a popsáno více než 550 různých druhů proteinkinás, z nichž každá má v průměru 4 - 5 isoform.

Podtřídu I nadrodiny receptorových kinás (RTK) tvoří **receptory epidermálního růstového faktoru** jako **ErbB (HER)**. Skládá se ze 4 členů (EGFR/ErbB1=HER1), ErbB2 (=HER2/Neu), ErbB3 (=HER3), ErbB4 (HER4). Objasnění mechanismu jejich činnosti má značný význam pro pochopení kancerogeneze.

ErbB u karcinomů

Rodina ErbB-receptorů je exprimována u řady různých maligních nádorů jako je *nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC)*, dále *karcinomy hlavy a krku, prsu, slinivky břišní, žaludku, tlustého střeva a konečníku, jícnu, prostaty, močového měchýře, ledvin a vaječníků*. Některé zprávy udávají, že více než 90 % solidních tumorů exprimuje alespoň jeden receptor z rodiny ErbB. Pro určení diagnózy, prognózy a především pro nasazení účinné terapie je nutné určit, o jaký typ se jedná:

ErbB1 neboli **EGFR** hraje důležitou úlohu při regulaci normálního růstu buněk. Bývá nadměrně exprimován kupř. u *karcinomu mléčné žlázy, vaječníku, ledvin, plic* nebo *hlavy a krku*. Výraznější exprese bývá u nádorů metastazujících, rychle progredujících a rezistentních na

Výzkum je zaměřen hlavně na:

- Receptorové a nonreceptorové proteinkinasy
- Signální dráhy PI3K/Akt/PTEN a Ras/Raf/MAPK
- Inhibitory růstových faktorů (EGFR, ERBB)
- Angiogenetické faktory (VEGF)
- Interferenční RNA
- Ubikvitin-proteasomová dráha
- mTOR (Mammalian Target of Rapamycin)
- Tumor-supresorové geny (p53, p16)

Tab. 1: Hlavní směry výzkumu protinádorové terapie

Situace není však tak jednoduchá, protože signalizace vedoucí k expanzi tumoru se může překrývat se signálními dráhami, které i normální buňky potřebují ke své činnosti a nebo aberantní signalizace není pro růst nádoru nezbytná. Maligní transformace buněk vyžaduje obvykle několik mutací (alterací), jejichž onkogenní charakter se projeví na více signálních molekulách, takže blokování jednoho člena ne-

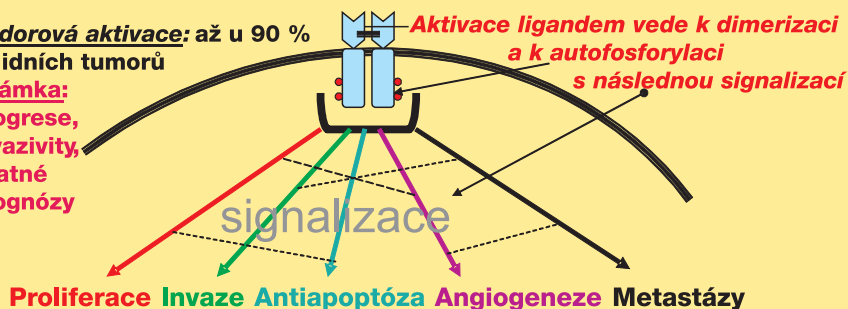
kulách jako jsou membránové lipidy nebo intracelulární inositolové sloučeniny. Defosforylace signálních molekul (tj. přerušování transdukce signálu) se děje pomocí specifických *proteinfosfat* (kupř. PTEN). *Fosforylace a defosforylace je způsob, jakým se aktivuje nebo inaktivuje průběh intracelulárních signálních drah*, který byl iniciován určitým signálem a jehož důsledkem je určitá buněčná funkce (kupř.

RECEPTORY epidermálních růstových faktorů u solidních tumorů

Ligandy ErbB: EGF, TGF α ; HB-EGF, b-celulin, epiregulin; neuregulin

Nádorová aktivace: až u 90 % solidních tumorů

Známka: progresse, invazivity, špatné prognózy



Rodina ErbB receptorů exprimována u různých tumorů:

Plíce (NSCLC), prs, hlava-krk, žaludek, kolorektum, jícen, prostata. moč. měchýř, pankreas, ovarium (90% solidních tumorů má alespoň 1 ErbB)

Obr. 1: Princip transdukce signálu navozeného epidermálním růstovým faktorem (EGF)

standardní terapii. Normální buňka má na svém povrchu 20 000 - 200 000 ErbB1, kdežto nadměrná exprese kupř. u karcinomu mléčné žlázy zvýší jejich počet až na 2 miliony. Podobná amplifikace genu ErbB1 byla popsána u nádorových buněk *astrocytomu* a *NSCLC*. Tato nadprodukce receptorů v přítomnosti nadbytku ligand vede k nekontrolovanému dělení nádorových buněk a progresi tumoru.

ErbB2 neboli **HER2/neu** je sice velmi potentní onkoprotein, ale na rozdíl od jiných členů ErbB-rodiny nemá žádný známý vysokoafinitní ligand. Jeho ektodomény už zaujímají aktivační formu, ale k vlastní aktivaci následné signální dráhy dochází až po dimerizaci s jiným ErbB monomérem, který byl uveden do konformace schopné vytvořit dimér vazbou s příslušným ligandem (obr.2). ErbB2 monomér nemůže proto vytvořit dimér s vlastním monomérem. Naopak přednostně vytváří heterodiméry s dalšími ErbB-receptory po jejich aktivaci ligandem.

ErbB3 je exprimován u *karcinomu mléčné žlázy* v popisované frekvenci od 20 do 70 %. Nemá katalytickou aktivitu; vytváří však ochotně heterodimér s jinými ErbB, zejména s ErbB2.

ErbB4 bývá v nadměrné expresi u několika druhů solidních nádorů; kupř. u 17 - 13 % *invazivních karcinomů mléčné žlázy*. Častěji se vyskytuje u nádorů s více diferencovaným fenotypem.

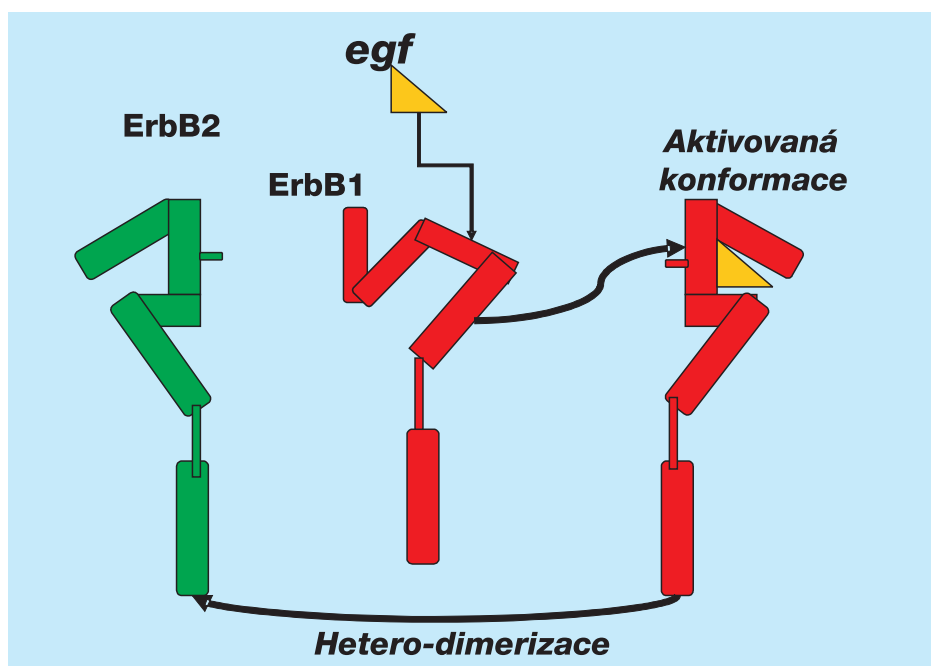
Abnormální signalizace ErbB-receptorové tyrosinkinasy

Aktivace receptorů se děje vazbou ligandu (kupř. růstového faktoru) na extracelulární doménu, čímž se navodí tvorba dimerů receptoru (homo- nebo heterodimerizace). Extracelulární část ErbB-receptoru tvoří 4 domény (I, II, III, IV). Doména II má vazebné místo pro další monomér. ErbB2 se liší od ostatních typů ErbB receptorů jednak v tom, že nemůže vytvářet homodimér a dále v tom, že konformace jeho ektodomén neumožňuje zachytit ligandu, ale může preferenčně vázat ostatní ligandou

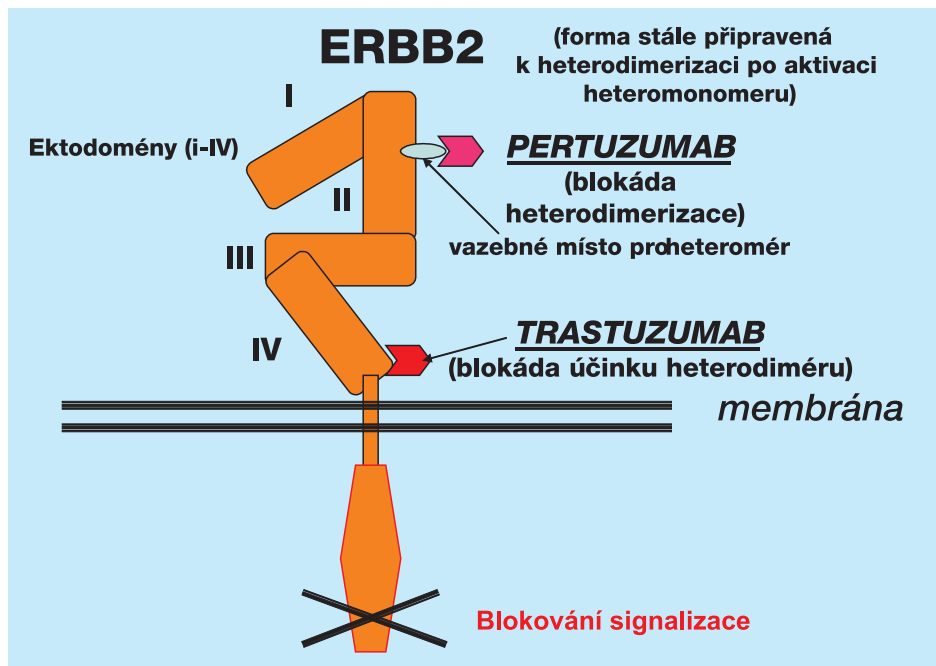
aktivované ErbB-monoméry. Dimerizace iniciuje aktivaci tyrosinkinasy v intracelulární části receptorové molekuly (autofosforylace) s následnou transmisí signálu. Abnormální signalizace ErbB může být způsobena nadměrnou expresí nebo mutací či sníženou aktivitou opačně působící příslušné proteinfosfatasy. Následná signalizace zahrnuje kaskádu Ras/Raf/MAPK-dráhy, která se podílí na proliferaci, migraci a diferenciaci buněk. ErbB také aktivuje signalizaci PI3K/Akt dráhy, která navozuje proliferaci a antiapoptózu. Do této signalizace zasahuje také aktivace transkripčních proteinů STAT a centrální regulátor přísunu nutrientů a energie pro udržování buněčného cyklu dělení - signální molekula mTOR. Jmenované signální dráhy podporují progresi a šíření nádorového procesu.

Aktivace ErbB (vyjma ErbB2) se děje vazbou příslušného ligandu (kupř. EGF) na vazebné místo ektodomény; to má za následek změnu její konformace, která jí umožní navázat se na jiný homo- nebo heteromér. Dimerizace navodí autofosforylacii intracelulární části receptoru s následnou transdukci signálu (obr. 2).

Specifická monoklonální protilátka *pertuzumab* blokuje vazebné místo (ektodoména II) pro ligandem aktivovaný jiný monomér (brání tak heterodimerizaci a tím aktivaci receptoru), kdežto *trastuzumab* potlačuje aktivitu heterodimeru vazbou na ektodoménu IV.



Obr. 2: Schéma mechanismu aktivace ErbB růstovým faktorem



Obr. 3: Schéma doménového uspořádání extracelulární části receptoru ErbB2 a mechanismus inhibice dvěma typy specifických monoklonálních protilátek

Hlavní signální dráhy ErbB receptorů

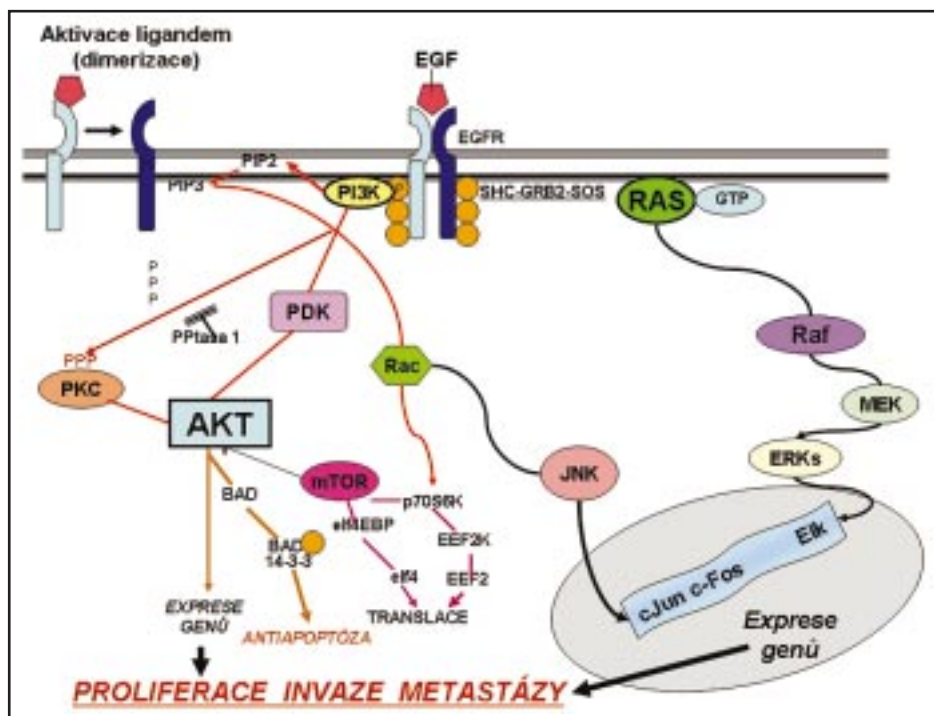
Aktivace ErbB receptorů vede k transdukcii signálů, které aktivují geny regulující růst a proliferaci buněk, cyklus buněčného dělení, angiogenezi, invazivitu, rezistenci vůči protinádorové terapii. Uplatňuje se přitom signalizace prostřednictvím PI3K/PTEN-AKT a Ras/Raf/MAPK dráhy, STAT-proteiny, prostřednictvím mTOR nebo uvolněním a transaktivací pro-Erb faktorů apod. (obr. 4).

Signální dráha Ras/Raf/Mek/MAPK (Dráha MAPK-kinasy)

Ras proteiny zaujímají klíčovou pozici v signální transdukcii v drahách, jejichž členy jsou receptory s tyrosinkinasovou aktivitou nebo molekuly Raf a MEK (kinasa kinasy mitogenem aktivované kinasy) a řada dalších intracelulárních drah (JNK=SAPK1, dále SAPK2 nebo ERK1/2) realizujících *buněčnou proliferaci, migraci a diferenciaci* na stimuly růstových faktorů (kupř. EGF) nebo na stres (obr. 5). Aktivace EGFR zprostředkovává také signál drahou PI3K/Akt, která se podílí na proliferaci a anti-apoptóze (přežívání buněk). Jde o komplexní síť signálních drah, jejichž nepřiměřená aktivace může vést k maligní transformaci buněk a rozvoji nádorového onemocnění. Tyto signální

Ras dostává velmi rychle do inaktivního stavu Ras-GDP. Pro udržení Ras-signalizace je třeba řady postranlačních modifikací, které umožňují přichycení Ras k vnitřní buněčné membráně. Jde jednak o *farnesy-laci* (lipidovou prenylací) Ras-proteinů při C-terminální tetrapeptidové sekvenci (CAAX-motiv) reakcí katalyzovanou *farnesytransferasou* (FT-asa), jednak o *prenylací* pomocí *prenyltransferasy*.

Savčí buňky mají nejméně 3 proto-onkogeny, které kódují K-ras, H-ras a N-Ras. Mutace v těchto genech navozují pak patologickou proliferaci a antiapoptózu. Mutace *ras* se vyskytují asi u 30 % všech lidských karcinomů: mutace K-ras u nemalobuněčného karcinomu plic, dále u karcinomu tlustého střeva a konečníku nebo pankreatu; H-ras u karcinomu močového měchýře nebo ledvin; N-ras u melanomu nebo u hematologických malignit.



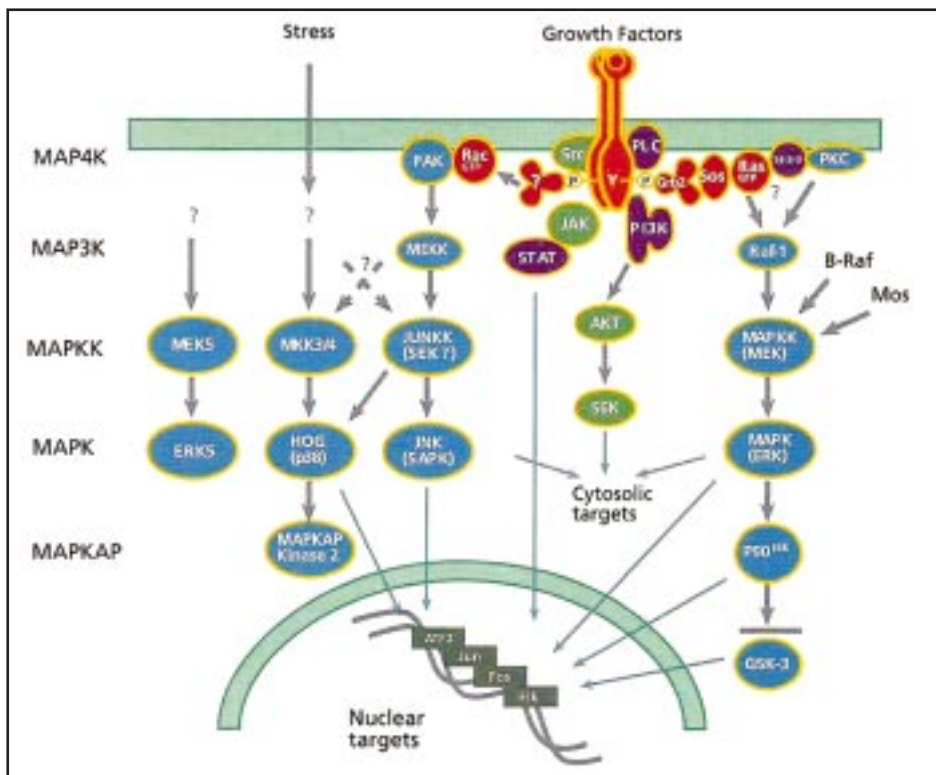
Obr. 4: Zjednodušené schéma signalizace epidermálního růstového faktoru (dráha PI3K/Akt a Ras/Raf/MAPK)

kaskády aktivují nukleární transkripční faktory jako ATF2, Jun, Fos, Elk.

Klíčovou molekulou v přenosu signálu je **aktivace Ras**. Mechanismus spočívá v tom, že **inaktivní Ras-guanosin-5'-difosfát** (Ras-GDP) vázaný na membránu přechází na **aktivní membránový Ras-guanosintrifosfát** (Ras-GTP), který aktivaci předává na další členy dráhy. Normální kontrola Ras-signalizace spočívá v následné hydrolyze GTP prostřednictvím proteinů aktivujících GTPasu, takže se

Ovlivnění mutované Ras podporující proliferaci nebo antiapoptózu nádorových buněk lze uskutečnit inhibicí farnesylylace (prenylylace) potlačením aktivity FT-asy (ve zkoušení je kupř. preparát **R115777 - Tipifarnib** vykazující příznivý terapeutický účinek u hematologických malignit). Účinek inhibitorů FT-asy však může být negativně ovlivněn geranylgeranylací K-Ras a N-Ras (po blokadě farnesylylace), které vede k pokračující proliferaci buněk.

Dalšími cíli zásahu do signalizace MAPK mohou být molekuly **Raf** a **MEK**.



Obr. 5: Schéma signalizace MAPK

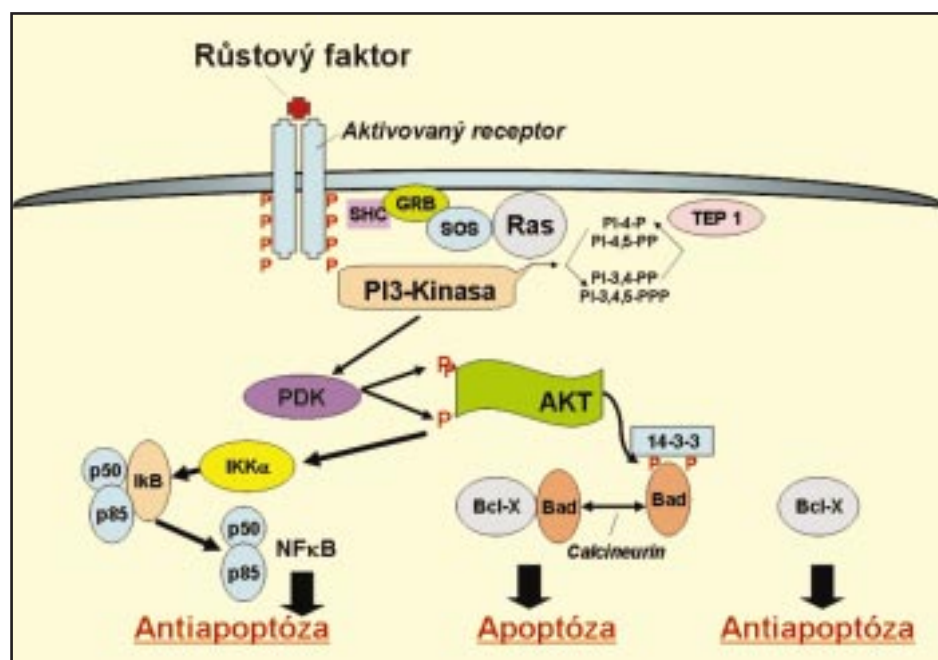
B-Raf mutace byla prokázána asi u 30 % lidských tumorů, jako jsou nádory vaječniku nebo melanomy. **Raf** je rodina *serin/threonin-kinas*, aktivovaných proteinkinásou C_{α} , známou svým podílem na expresi rezistence vůči protinádorové chemoterapii. Substrátem pro MEK a MAPK-kinasy jsou kinasy regulované extracelulárními signály: **Erk1** a **Erk2**, které dále aktivují cytosolové a nukleární proteiny (nukleární faktory). Ve velmi časném stádiu zkoušení jsou inhibitory Raf-1 označované jako **BAY 43-90006** (působí na ATP-vazebné místo) a **CI-1040** - inhibitor MAPK (působící na non-ATP místě).

Dráha PI3K/Akt/PDEN

Kaskáda této dráhy má klíčovou úlohu pro účinek insulinu (regulace glukosového transportéru GLUT4), růstových faktorů, integrinů a receptorů spojených s G-proteiny. Tato signalizace je důležitá pro růst buňky, pro postup buněčného cyklu v průběhu G_1 -fáze a pro přechod G_2 -fáze do mitózy, dále pro translaci při syntéze proteinů; ovlivňuje motilitu, neovaskularizaci, tvorbu metastáz, protinádorovou rezistenci, přežití buněk (apoptózu a anoikis, což je apoptóza navozená deprivací matrix) a maligní transformaci buněk indukovanou různými onkogeny nebo tumor-supresorovými geny. Tato dráha bývá akti-

vována až u 70 % lidských nádorů (**onkogenní PI3K**). Tvoří komplikovanou síť s *p53-dráhou*, jejíž mutace je rovněž častá u řady nádorových onemocnění (obr. 6).

PI3K-dráha může být postižena amplifikací katalytické podjednotky PI3K, Akt a S6K1, aktivačními mutacemi katalytické podjednotky PI3K nebo jejími regulačními podjednotkami, dále inaktivačními mutacemi v TSC1/2, LKB1 a PTEN nebo přerýmky vidlice a **TCL1**. Kromě toho akti-



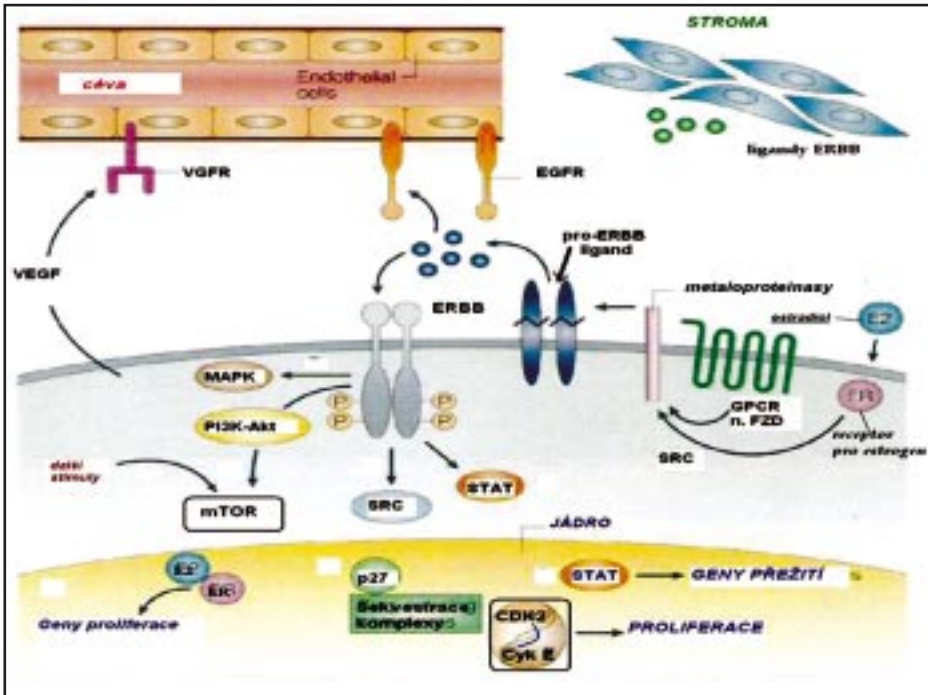
Obr. 6: Schéma signalizace PKB/Akt

vace Akt může obejít účinek terapeutické radiace nebo chemoterapeutik a také účinek nízkomolekulových inhibitorů jako je **gefitinib** a **erlotinib**. Na to je třeba pomyslet při testování a hledání nových způsobů terapie a pokusit se blokovat více členů nádorové signalizace (obr. 7).

Dráha receptoru pro růstový faktor podobný insulinu 1 (IGFR-1)

Tento receptor váže jak insulin tak **IGF-1**. **IGF-2** naproti tomu se může vázat buď s *IGFR-1* nebo s vysoce afinitním *IGFR-2*, který však nevede k intracelulární signalizaci. Insulinu podobný růstový faktor 1 (**IGF-1**) se tvoří za normálních okolností v játrech při stimulaci růstovým hormonem (GH) z adenohipofýzy. Sekrece je regulována z hypothalamu účinkem liberinu pro růstový hormon (GHRH) a somatostatinu. V krevní plasmě se váže IGF na IGF-vázající proteiny (IGFPs). Tyto jsou také obvykle produkovány játry (endokrinní zdroj). Za určitých okolností jsou IGFs a IGFP také tvořeny v IGF-responzivních tkáních (autokrinní a parakrinní mechanismus). Určité IGFP-proteasy, produkové často nádorovými buňkami, uvolňují IGFs z blokující vazby na IGFP a umožňují tak jeho vazbu s IGF-1 receptorem (IGFR-1).

Signalizace IGFR-1 aktivuje v normální buňce řadu intracelulárních drah zprostředkovaných PI3K a AKT, které regulují růst a apoptózu. V nádorových buňkách



Obr. 7: Mechanismus signalizace navožené pronádorovou aktivací receptorů růstových faktorů a sdružených signálních drah

má IGFR-1 klíčovou úlohu při jejich rozvoji, protože se podílí významně na inhibici apoptózy, maligní transformaci, šíření metastáz, indukci angiogeneze po aktivaci vaskulárním růstovým faktorem (VEGF). Zvýšená hladina cirkulujícího IGF-1 byla prokázána u pacientů s rakovinou prsu a prostaty jako projev nadměrné exprese v tkáni nádoru. Hledání vhodných inhibitorů této signalizace musí počítat s tím, že doménu tyrosinkinasového receptoru aktivuje též insulin s následným insulinovým metabolickým účinkem. Oddělení obou efektů je obtížné ale možné. Slibným se ukazuje být preparát NVP-AEW541, který vykazuje *in vitro* 27 krát vyšší inhibiční účinek na IGFR-1 než na insulinový receptor. Selektivita preparátu byla potvrzena nezměněnou koncentrací glukosy a insulinu v krevní plasmě. V počátcích jsou zkoušky inhibice buněčných linií karcinomu prsu MCF-7, léčení mnohočetného myelomu (*in vitro*) nebo nemalobuněčných karcinomů plic (NSCLC) rezistentních na protinádorovou terapii pro expresi autokrinní klíčky zprostředkovanou signalizací SCF/c-Kit.

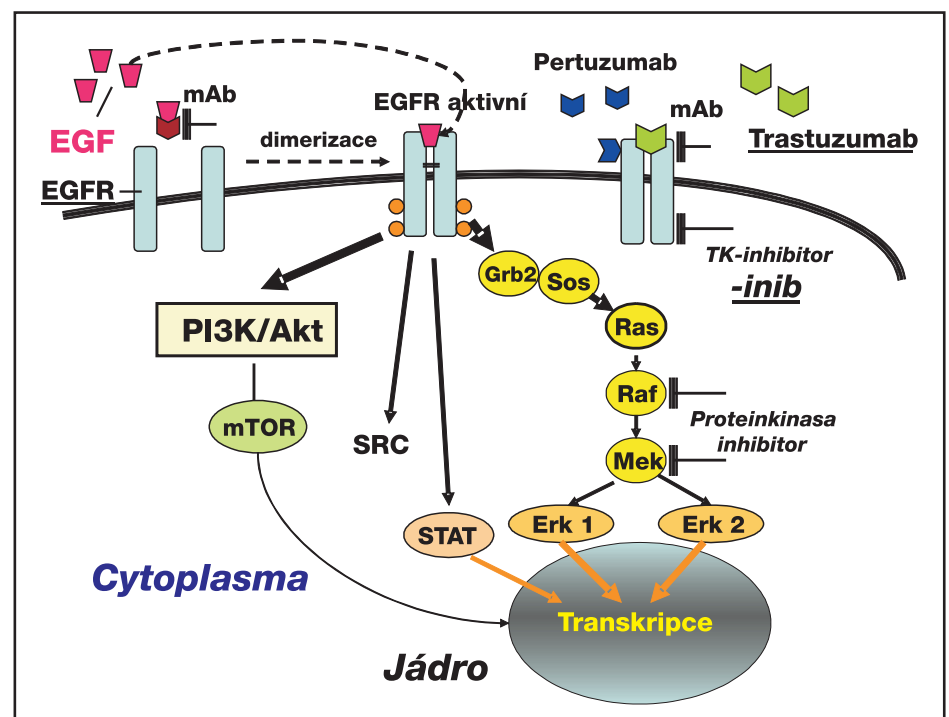
Možnosti cílené protinádorové terapie

Inhibice signalizace pronádorovou aktivací receptorů růstových faktorů je v podstatě možná dvěma způsoby: (1) Blokováním extracelulární domény re-

ceptoru kupř. specifickou humanizovanou monoklonální protilátkou (...zumab), nebo (2) Potlačením intracelulární tyrosinkinasové aktivity nízkomolekulovým inhibitorem se strukturou podobnou ATP (...inib) (kupř. imatinib mesylát) (obr. 8).

Trastuzumab (Herceptin) je humanizovaná monoklonální protilátka, která kompetitivně inhibuje nadměrně exprimovaný EGF-receptor erbB-2/HER-2 vyskytující se

asi u 25 % pokročilých karcinomů mléčné žlázy. Zvýšený obsah ErbB-2/HER-2 je také indikátorem špatné prognózy nejen u tohoto nádoru, ale též u karcinomu konečníku a tlustého střeva, malobuněčného karcinomu plic, dále u karcinomu vaječníku, žaludku, prostaty a u melanomu. Účinnost herceptinu se může uplatnit pouze tam, kde byla prokázána „overexprese“ ErbB-2/HER-2. Signální dráha epidermálního růstového faktoru HER2/Neu redukuje hladinu proteinu p27^{Kip1}, který blokuje komplex cyklin E-cyklin-dependentní kinasy 2 (CDK2), navozením jeho degradace ubiquitinací a degradací v proteasomu; to způsobí uvolnění z komplexu a tím aktivaci cyklu buněčného dělení (přestup G₁- do S-fáze). Trastuzumab (Herceptin) vazbou na doménu IV nadměrně exprimovaného HER2/Neu receptoru zvyšuje hladinu inhibitoru p27^{Kip1} a podporuje jeho asociaci s komplexem cyklin-CDK2, čímž znemožní aktivaci této kinasy a cyklus buněčného dělení se zastaví v G₁-fázi (a brání tak nádorové proliferaci). Pozdější rezistence nádorových buněk na účinek Herceptinu se vysvětluje jejich přizpůsobením na tuto situaci, a to nadměrnou expesí Skp2 (= ubiquitin-ligasa), která je klíčovým faktorem pro ubiquitinaci. Neodstraněný p27^{Kip1} neblokuje aktivitu CDK2 a nádorové buňky mohou dále proliferovat (obr. 9, 10).

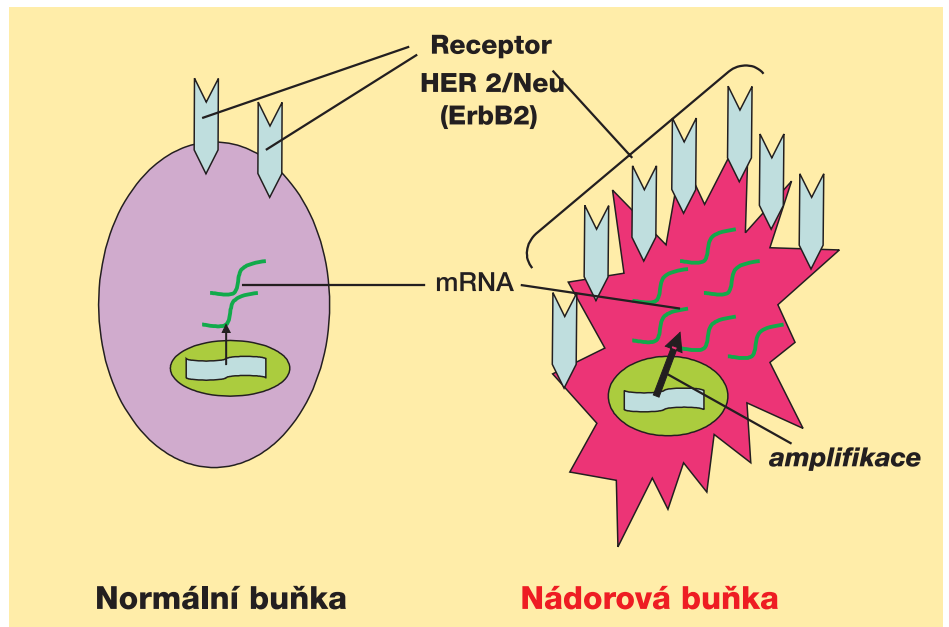


Obr. 8: Možnosti inhibice onkogenní signalizace ErbB

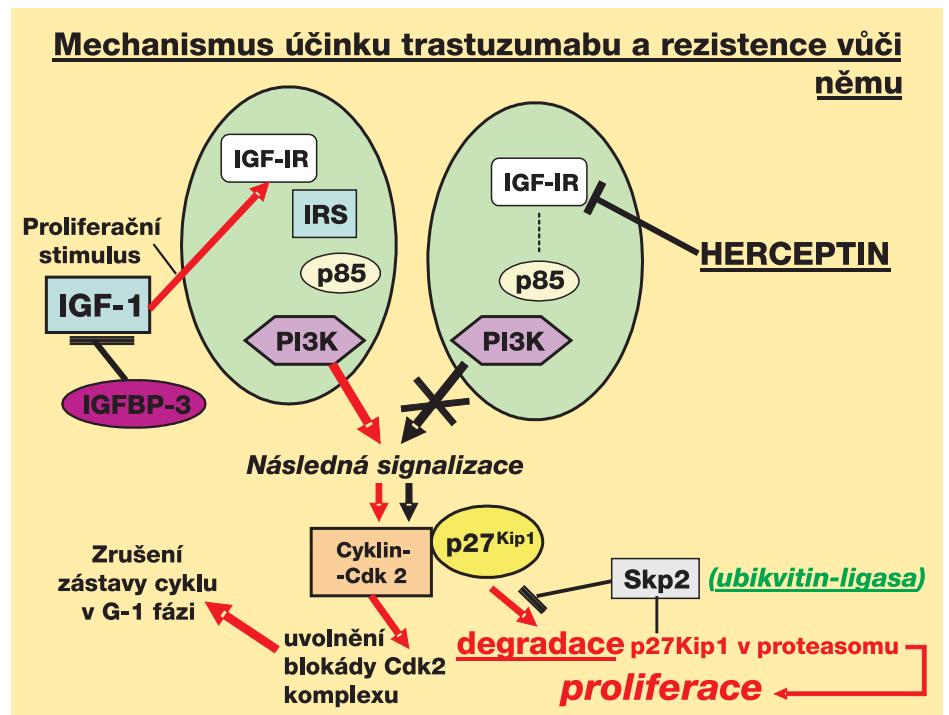
Cetuximab (mAb 225 nebo C225) (ER-BITUX©) je rekombinantní chimerická monoklonální IgG₁ protilátka blokující nadměrně exprimovaný nebo abnormálně aktivovaný EGFR vyskytující se u četných malignit jako jsou nádory hlavy a krku, dále karcinomy kolorektální, pankreatické, ovariální, prostaty a prsu nebo gliomy. Nadměrná exprese EGFR je i zde známkou horší prognózy. Kombinace terapie cetuximabu s irinotecanem (chemoterapeutikum) u pokočilých stádií kolorektálního karcinomu zpomalila rozvoj nádorů u 22,9 % pacientů a oddálila progresi o 4,1 měsíce. Monoterapie pouze s cetuximabem měla příznivou odpověď u 10,8 % a oddálila progresi o 1,5 měsíce. Aplikace cetuximabu se ukázala velmi užitečná v kombinaci s radioterapií pokročilých (III fáze) karcinomů laryngu a hypofaryngu. Podobně příznivý terapeutický efekt měla kombinace cetuximab/paclitaxel//karboplatina u karcinomů vaječníků.

Nízkomolekulové inhibitory tyrosin kinasové aktivity receptoru nebo non-receptorových tyrosin kinas obsadí a tím blokují vazebné místo pro ATP a znemožní tak fosforylaci příslušného tyrosinu; signalizace je tak zastavena. Při blokádě jde o kompetitivní inhibici buď se specifickým účinkem na určitou TK nebo s účinkem na širší spektrum jednotlivých tyrosin kinas.

Imatinib mesylát (STI571) je prvním agens ve třídě nízkomolekulových inhibitorů TK vyzkoušených klinicky. Inhibuje neustále aktivovanou cytoplasmatickou *Bcr-Abl* kinasu vytvářenou abnormálním Philadelphia chromosomem u *chronické myeloidní leukemie*. Imatinib zabráňuje proliferaci i nádorové anti-apoptóze. Ukázalo se, že inhibuje dvě další tyrosin kinasy, a to *Kit* a *PDGFR*. Užívá se proto též u *Kit*-pozitivních neresekovatelných nebo metastazujících *gastrointestinálních stromálních tumorů*, dále u *hypereosinofilního syndromu* navozeného hyperaktivitou *PDGFR* a u *dermatofibrosarkomové protuberance*. Terapeutický účinek imatinib mesylátu je však vázán pouze na nádory s mutacemi nebo „rearrangement“ Abl, Kit nebo PDGFR. Tyto genetické abnormality podporují proliferaci uvedených nádorů. Ukázalo se dále, že účinek u gastrointestinálních stromálních tumorů není jednotný; u skupiny pacientů, kteří měli perimembránově aktivující mutace v *Kit*, byl léčebný účinek mnohem



Obr. 9: Zjednodušené schéma onkogenní nadměrné exprese ErbB2 (HER2/Neu)



Obr. 10: Zjednodušené schéma inhibice nádorové proliferace (amplifikace ErbB2) účinkem Herceptinu a pozdější rezistence nádorových buněk účinkem nadměrné exprese ubiquitin-ligasy (Skp2)

četnější a měl delší trvání. Významné bylo též zjištění, že vyšetření pomocí pozitronové emisní tomografie (PET) zobrazující vychytávání FDG-glukosy nádorem prokazuje odpovídavost na tuto terapii (běžné CT nikoliv) (obr. 11).

Byly vyvinuty další nízkomolekulové inhibitory tyrosin kinasové aktivity EGFR, které jsou testovány pro onkoterapii. Jsou tříděny podle selektivity účinku: monofunkční pro erbB-1/EGFR nebo multifunkční s pan-ErbB aktivitou. Mezi nejznámější patří **gefitinib**. Preklinické studie

vykazují protinádorový účinek u *karcinomu mléčné žlázy, plic a vaječniku*. Byl vyzkoušen jako monoterapie u pacientů s progredujícím *malobuněčným karcinomem plic* nereagujícím už na chemoterapii deriváty platiny a docetaxelem; příznivá odpověď trvající 1 měsíc byla pouze u 10 % pacientů. U části pacientů byl však výsledek lepší. Soudí se proto, že účinek gefitinibu je omezen jen na určité aktivující mutace v intracelulární doméně, které způsobují progresi tumoru; nevyskytuje-li se taková mutace u pacienta, pak je terapeutický efekt minimální.

Erlotinib je další nízkomolekulový inhibitor TK působící na řadu nádorových buněk, účinný samostatně i v kombinaci s chemoterapeutiky, radiací i se specifickými protilátkami. Výhodná je kombinace s **bevacizumabem** (specifickou humanizovanou monoklonální protilátkou blokující extracelulární část VEGFR) u *nemalobuněčných karcinomů plic*. Účinek je synergický: Erlotinib působí na vlastní nádorové buňky (potlačuje jejich růst a blokuje syntézu angiogenních faktorů - bFGF, VEGF, TGF α), bevacizumab inhibuje endotelové buňky v jejich odpovědi na angiogenní faktor VEGF. Zdá se, že příznivý terapeutický účinek není závislý na určité mutaci cílové molekuly, jako je tomu u gefinitibu.

Dalším nadějným inhibitorem je **SU11248** potlačující signalizaci VEGF, α -receptoru PDGF a receptoru tyrosinkinasy. Byl účinný u pacientů s *gastrointestinálním stromálním tumorem*, u nichž byl neúčinný gefinitib. Odpověď byla dokumentována pomocí PET; neprojevila se však zmenšením tumoru na CT.

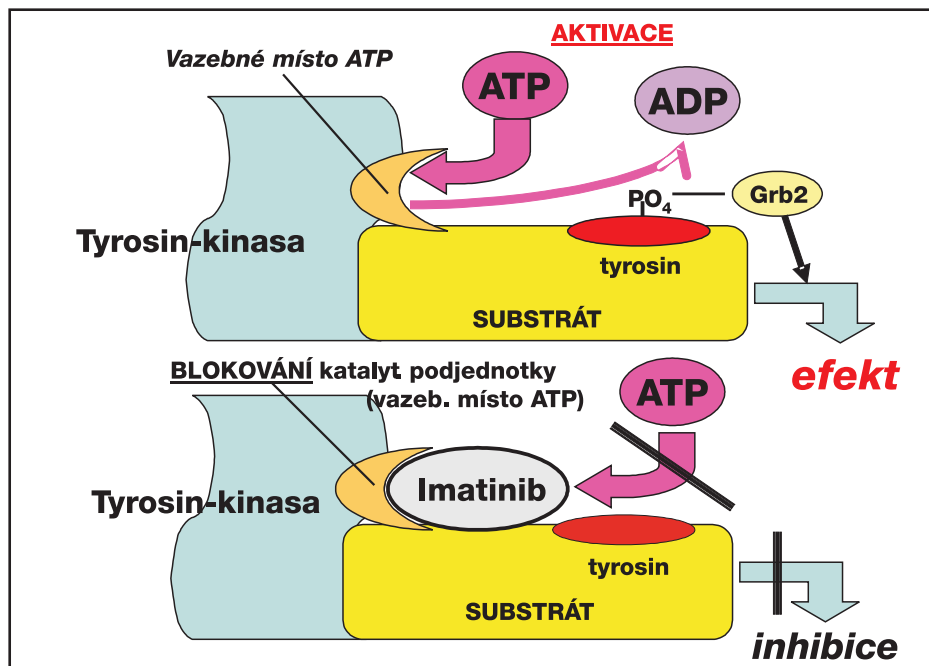
V počáteční fázi studia jsou tzv. **ireverzibilní inhibitory** rodiny erbB vázající se kovalentní vazbou na TK-doménu. Účinek je proto na rozdíl předcházejících reverzibilních inhibitorů trvalejší, potřebuje menší dávky léku a jsou pravděpodobně účinné i tam, kde je vysoká koncentrace ATP (tab. 2).

(pokračování)

Sympóziem laboratornej diagnostiky na Slovensku

V krásnom hornatom prostredí stredného Slovenska, v areáli hotela Kaskády v Sielnici pri Banskej Bystrici sa v dňoch 11.-13. 9. 2006 za účasti 125 odborníkov zo Slovenska, Českej republiky, Talianska a Nemecka konalo Sympóziem laboratornej diagnostiky 2006.

Konferencia, ktorej odbornými garantmi bola Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, Slovenská spoločnosť pre laboratornú medicínu a Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratornej medicíny Slovenskej zdravotníckej univerzity, bola ohodnotená 12 kreditmi SACCME.



Obr. 11: Schéma inhibice tyrosinkinasy obsazením ATP-místa nízkomolekulovým inhibitorem

LÁTKA	Cílová molekula	Stav klinického testu
Monoklonální protilátky		
Trastuzumab (Herceptin) Genentech	ErbB2	Karcinom prsu, u nadměrné exprese ErbB2
Cetuximab (IMC-C225, Erbitux) ImClone Systems	ErbB1	Karcinom kolon; testován v kombinaci s jinými u karcinomu pankreatu, hlavy a krku, nemalobuněčného karcinomu plic
Pertuzumab (Omnitarg) Genentech	ErbB2 (blokuje heterodimerizaci)	Fáze 2: ca-ovaria, prsu, prostaty, NSCLC
Metuzumab Merck KGaA	ErbB1	Fáze 2: NSCLC, ca-jícnu, pankreatu, gynekologické
Panituzumab Abgenix	ErbB1	Testován u: ca-ledvin, kolorekta, NSCLC
Nízkomolekulové inhibitory		
Gefinitib (Iressa) Astra Zeneca	ErbB1	Testován u NSCLC, ca-hlavy a krku, prsu, GIT
Erlotinib (Tarceva) Genentech/CSI Pharmaceuticals	ErbB1	Testován u NSCLC a dalších
Lapatinib Glaxo Smith/Kline	ErbB1/ErbB2	Testován u NSCLC a dalších
AEE-788 Novartis	ErbB1-ErbB2/VEGFR (multifunkční TK inhibitor)	Fáze 1: řada indikací
Canertinib (CI-1033) Pfizer	ErbB1/ErbB2 (ireverzibilní TK inhibitor)	Fáze 2: NSCLC, ca-prsu
EKB-569 Wyeth-Aerst	ErbB1/ErbB2 (ireverzibilní TK inhibitor)	Fáze 2: NSCLC
EXEL 7647/EXEL 0999 EXELIXIS	ErbB1-ErbB2/VEGFR	Fáze 1:
Rekombinantní vakcína		
EGF-564k National Institut of Oncology	ErbB1	Fáze 1:

Tab. 2: Přehled současného stavu vyvinutých různých inhibitorů ErbB receptorů a molekul s tyrosinkinovou aktivitou